

4637

精神疾患患者髄液の蛋白結合多糖類の定量法

田中 善立 桜田 高

(弘前大学医学部精神医学教室 主任 和田教授)

髄液は中枢神経系を囲繞する特殊な体液である。従って髄液成分の化学分析学的研究は中枢神経系疾患の際に重要な検索の1つである。最近、この方面の研究は大いに発展したが、その中の1つに髄液蛋白の電気泳動的分析がある¹⁻⁴。しかし何といっても、髄液蛋白の量的ならびに質的变化という髄液蛋白の追究上、近時問題となりつつあるのは、蛋白結合多糖類(以下 PBP と略)のそれであるが、その測定は髄液の濃度が低いために困難でもあった。そこでわれわれは、髄液の PBP の測定方法を検討し、容易に定量しうる方法を確立したが、そのえられた精神疾患患者髄液の PBP 測定の結果をここにのべる。

実験方法

髄液の PBP 測定は Roboz, Murphy & Forster⁵⁾ によりこころみられている。Roboz らの PBP 定量法は, Badin, Jackson & Schubert⁶⁾ の血漿蛋白結合多糖類の測定方法を応用している。さらに Badin の方法は Shetlar⁷⁾ の Tryptophan 法を改良したものである。

われわれがおこなっている方法が、Roboz らの方法と異なる点はつぎの諸点である。すなわち、(1) Badin は血清 0.5 ml もちい、Shetlar の原法では血清を生理食塩水で2-3倍にうすめたものを使用しているが、髄液ではその含有成分が微量のため、うすめる必要はない。また Roboz らは髄液 2 ml を使用しているが、われわれの経験では髄液 4 ml をもちいるのがもっとも比色し易い。(2) 蛋白沈殿剤としてトリクロール 酢酸⁸⁾ をもちいると、アルコール沈殿法に比して、炭水化物含有量の比較的高い酸性ムコプロティンの相当量が上清の方に逃る可能性がある。そこでわれわれはアルコール沈殿法をもちいた。アルコール沈殿の際、沈殿物に遊離糖が混入する可能性を少なくするためアルコール処理は3回おこなった(表1参照)。(3) 呈色を安定にするためには、Badin の方法に従って硫酸に硼酸をくわえた。この際の吸収曲線の峰は 540 mμ であった(図1参照)。(4) Beckman 型光電分光光度計をもちいて、波長 540 mμ で測定することにした。

試薬

(a) 硫酸：再蒸留水 230 ml に特級硫酸 770 ml をくわえ、さらに硼酸 50 g をくわえたもの。

English Title for No. 4637: A quantitatively determining method for protein-bound polysaccharides of the cerebrospinal fluid in psychotic patients. **Zenryu Tanaka and Takashi Sakurada** [Department of Neuropsychiatry, Faculty of Medicine, Hirosaki University, Hirosaki. Director: Prof. T. Wada.] *Medicine and Biology*. 45(3): 96-98, November 5, 1957.

b) 純アルコール(局方)。

c) 1%トリプトファン溶液: L-トリプトファン(東京化成) 1g に再蒸留水をくわえて全量 100 ml とする。

d) 標準糖液: ガラクトース 100 mg およびマンノース 100 mg を 1 l の再蒸留水に溶解する。

手技: (a) 髄液 4 ml を純アルコール 10 ml の中に注ぎ、攪拌・遠心 (2500 回転/1 分 10 分間) 沈殿をうる。上清をすてる。(b) 沈殿にさらに純アルコール 10 ml くわえ、攪拌遠心して、上清をすてる。本操作を 3 度繰り返す。(c) えた沈殿を 37°C のフラン器内に入れて完全にアルコールを蒸発乾燥させる。(d) 沈殿に再蒸留水 1 ml および 77% 硫酸 7 ml

表 1 アルコール処理回数と髄液 PBP 量

アルコール処理回数	PBP 量 mg/L
1 回: (Badin 法)	6.0
2 回: (Shetlar 法)	5.8
3 回: (Badin 変法)	5.3
4 回:	5.3

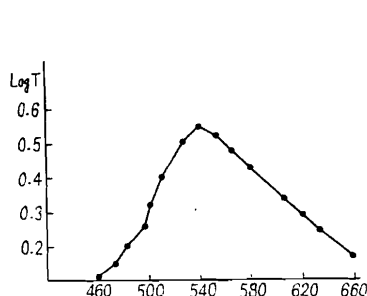


図 1 吸収曲線

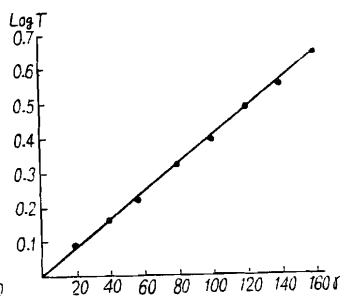


図 2 標準グラフ

をくわえ、5 分間水中にひたし、15 分間室温に放置する。(e) これに 1% L-トリプトファン 1 ml をくわえて攪拌後、煮沸浴中に 20 分間たもつ。この間 2 度攪拌する。(f) 5 分間氷水中にひたし、30 分間室温に放置する。(g) Beckman 型光電分光光度計をもちい、波長 540 mμ で測定する。(h) 盲検には髄液の代りに再蒸留水 1 ml をもちい、(d) 以下の操作を同様におこなう。

吸収曲線: 標準糖液 0.5 ml に再蒸留水 0.5 ml をくわえ、(d) 以下の操作をおこなって呈色させ、440 mμ から 680 mμ までの吸光度を測定し、図 1 の如き吸収曲線をえた。

標準グラフ: 標準糖液 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.25, 0.3, 0.5 ml をとり、これに再蒸留水をくわえて全量をそれぞれ 1 ml とし、(d) 以下の操作をおこなって、540 mμ で吸光度を測定すると、図 2 に示す如くに原点を通る直線がえられる。

実験材料

実験材料はすべて入院および外来患者から腰椎穿刺により採取した髄液である。特に正常髄液と看做したものは、中枢神経系に器質的变化のみとめえないもので、髄液の諸種反応陰性で、気脳写真所見の正常な者の髄液である。

実験成績

実験成績は表 2 に一括して示した。

表 2 健康人および精神疾患患者髄液の PBP (mg/L)

	症例	バンディ 反応	ノンネ I 反応	細胞数	総蛋白 (mg/dl)	ワッセル マン反応	PBP
てんかん	1	—	—	1/3	平均 24	—	11
	2	—	—	1/3		—	13
	3	—	—	3/3		—	15
	4	—	—	2/3		—	17
	5	—	—	1/3		—	14
精神分裂病	6	—	—	3/3	平均 25	—	3
	7	—	—	0/3		—	7
	8	—	—	1/3		—	9
進行麻痺	9	冊	冊	75/3	67	冊	33
	10	冊	冊	55/3	59	冊	30
対照例 (健康正常人)	11	—	—	1/3	平均 23	—	5
	12	—	—	0/3		—	6
	13	—	—	0/3		—	7
	14	—	—	2/3		—	10
	15	—	—	1/3		—	2

本研究はなお継続中であるので、ここでは髄液 PBP 測定方法を主として記述するにとどめた。

- 1) Kabat, J.: *Clin. Invest.* **21**: 571, 1942. — 2) Tanaka, : *Tohoku J. Exp. Med.* **63**: 245, 1956. — 3) Tanaka: *Tohoku J. Exp. Med.*, **64**: 189, 1956. — 4) 斎藤義寛: 精神誌. **59**: 614, 1957. — 5) Roboz, Murphy, Hess & Forster: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **89**: 691, 1955. — 6) Badin, Jackson & Schubert: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* **84**: 288, 1953. — 7) Shetlar: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **67**: 125, 1948. — 8) Stary, Badur & Lisie: *Klin. Wschr.* **31**: 339, 1953.

(受付: 昭和 32 年 8 月 17 日)